

**Der Einfluß des Acetylcholins auf
den Katecholamin- und
Ascorbinsäuregehalt der
Nebennieren**

Raphaël Theotime Ebene

1961



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555220_0072

**Der Einfluß des Acetylcholins auf
den Katecholamin- und
Ascorbinsäuregehalt der
Nebennieren**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Raphaël Theotime Ebene
aus Jaunde/Kamerun

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. SEITZ

Dekan: Professor Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 10.10.1961



"Meiner Mutter, in tiefster Sohnesliebe;
meinem Vater, der sein arbeitsames Leben
mir bis zu seinem Tode geopfert hat
in liebevollster Ehrfurcht;

meinem geachteten Onkel, Abt Theodore Tsala
im gläubigen Vertrauen;

allen Lehrern, Bekannten und Freunden,
die mich zum Medizinstudium angeregt und unterstützt haben;
gewidmet."

INHALTSVERZEICHNIS

PROBLEMATIK	7
EIGENE VERSUCHE	9
Methodik	9
Versuchsreihen	10
Statistische Auswertung	19
DISKUSSION	23
ZUSAMMENFASSUNG	23
LITERATURVERZEICHNIS	24

PROBLEMATIK

Auf Grund der Ergebnisse früherer Untersuchungen hat Mathies (1) die Vermutung ausgesprochen, daß Acetylcholin zu einer reaktiven Freisetzung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark führt, welche nicht als Stimulierung des Nebennierenmarkes aufzufassen ist. Die mit Acetylcholin durchgeführten Untersuchungen wurden im Rahmen einer größeren Untersuchungsreihe vorgenommen, die den Wirkungsmechanismus hyaluronidasehemmender Substanzen aufklären sollten. Im einzelnen haben die Versuche gezeigt, daß Substanzen, die das Hyaluronidasespread ng hemmen, wie zum Beispiel Salicylate, (2,3) Nebennierenrindensteroid e (4) und Phenylbutazon (5) bei intakten und hypophysektomierten Tieren zu einer Hemmung des durch Hyaluronidase vermehrten Farbstoff-Spreadings bei Ratten führen. Diese Wirkung wurde bei adrenaletomierten Tieren nicht beobachtet. Damit wurde wahrscheinlich gemacht, daß die Nebenniere eine Rolle bei der Wirkung hyaluronidasehemmender Substanzen spielt. Es war jedoch noch nicht geklärt, ob die Nebennierenrinde oder das -mark den entscheidenden Anteil darstellt.

Domenjoz (6) konnte zeigen, daß Salicylate und Phenylbutazon bei intakten Ratten eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren bewirken, die bei hypophysektomierten Tieren nicht beobachtet wird. Damit war erwiesen, daß die untersuchten Substanzen die Nebennierenrinde nach Sayers und Sayers (7) bei intakten Ratten stimulieren. Diese Rindenaktivierung trat jedoch bei hypophysektomierten Ratten nicht auf, obwohl nach den Arbeiten von Mathies und Mitarbeitern (2,5) auch bei hypophysektomierten Tieren die Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings erhalten bleibt. Damit war anzunehmen, daß die Wirkung der hyaluronidasehemmenden Stoffe über eine Nebennierenmarkaktivierung läuft. Diese Annahme konnte durch Untersuchungen von Mathies und Mitarbeitern (8,9) erhärtet werden, nach denen die Nebennierenmarkkatecholamine Adrenalin und Noradrenalin sowohl bei intakten als auch bei adrenaletomierten Tieren eine Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings bewirkt. Der hyaluronidasehemmende Effekt der Salicylate, Rindensteroid e und Phenylbutazon einerseits und der Nebennierenmarkkatecholamine andererseits kann durch ein Adrenolyticum blockiert werden (8). Ganglienblocker blockieren nur den hyaluronidasehemmenden Effekt der Salicylate, der Rindensteroid e und des Phenylbutazons, nicht aber den des Adrenalins und Noradrenalins (10). Nach Eichholtz (11) ist die Wirkung der Ganglienblocker in diesem Falle als Blockierung des Nebennierenmarkes aufzufassen. Die Untersuchungsergebnisse von Mathies und Schlierf (12) ließen vermuten, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung der Nebennierenmarkkatecholamine keinen direkten Katechol-

amineffekt darstellt, da der Effekt erst zu einem Zeitpunkt auftritt, nach dem die an der Pupillenweite registrierbare Adrenalinwirkung bereits abgeklungen ist. Es wurden deshalb mehrere Möglichkeiten der Wirkungsweise diskutiert (4). Einmal kann erst die vagale Gegenregulation auf die Katecholaminwirkung hyaluronidase-hemmend wirksam werden. Weiterhin schien es möglich, daß weitere Abläufe im Anschluß an die Katecholaminfreisetzung eingeschaltet werden, die eine bestimmte Latenzzeit nach der anfänglichen primären Katecholaminwirkung bedingen schließlich war es möglich, daß erst das Absinken des Katecholaminblutspiegels nach anfänglicher Erhöhung die Hemmung des Hyaluronidasesreadings auslöst. Differenzierte Versuchsanordnungen haben wahrscheinlich gemacht, daß diese zuletzt diskutierte Möglichkeit vorliegen dürfte. Wenn man adrenaletomierten Tieren eine über 2 Stunden dauernde Infusion mit Adrenalin verabfolgt, ist während der Applikation keine Hemmung des Hyaluronidasesreadings sichtbar, diese tritt vielmehr erst nach Absetzen der Injektion auf (12). Setzt man bei adrenaletomierten Tieren während fortlaufender Adrenalininfusion Spritzen einer höheren Adrenalinindosierung, so ist im Anschluß an diese zusätzlichen Injektionen bereits während der Infusion eine Hemmung des Hyaluronidasesreadings sichtbar (12). Damit schien erwiesen, daß jedes Absinken des Katecholaminblutspiegels nach vorheriger Steigerung eine Hemmung des Hyaluronidasesreadings bedingt. Gleichzeitig zeigen diese Versuche, daß keine feste Latenzzeit nach Wirksamwerden einer Adrenalininjektion besteht. Die Annahme, daß eine vagale Gegenregulation auf die primäre Katecholaminwirkung hyaluronidasehemmend wirksam wird, wurde durch die Feststellung ausgeschlossen, daß Acetylcholin (zusammen mit Prostigmin als Cholinesterasehemmer injiziert) bei adrenaletomierten Tieren keinen Einfluß auf das Hyaluronidasesreading ausübt (13). Eine Hemmung des Hyaluronidasesreadings durch Acetylcholin als vaguswirksame Substanz bei adrenaletomierten Tieren müßte in diesem Falle gefordert werden. Dagegen zeigten Untersuchungen von Kramer, (14) daß Acetylcholin + Prostigmin bei intakten Ratten eine Hemmung des Hyaluronidasesreadings hervorruft. Diese Feststellung ließ vermuten, daß die Injektion von Acetylcholin eine reaktive Ausschüttung von Katecholaminen aus dem Nebennierenmark zustande bringt. Mathies und Kramer (15) haben zeigen können, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung des Acetylcholins bei intakten Ratten durch Ergotamintartrat, nicht aber durch den Ganglienblocker Pendiomid, blockiert werden kann. Nach diesem Verhalten war zu vermuten, daß Acetylcholin keine Stimulierung des Nebennierenmarks bewirkt, obwohl auf anderem Wege Katecholamine freigesetzt werden, da deren Wirkung durch das Adrenolyticum blockiert wird. Es müßte sich also um eine reaktive Katecholaminausschüttung handeln, die nicht im Sinne einer Markaktivierung nach üblicher Auffassung zu verstehen ist. Um andere Wirkungsmöglichkeiten in diesem Ablauf durch Ergotamin und Pendiomid auszuschalten, war es erforderlich, den Einfluß des Acetylcholins auf den Katecholamingehalt der Nebennieren zu untersuchen, um daraus weitere Schlüsse auf das Stattfinden einer Katecholaminausschüttung ziehen zu können. Die geringen frei-

gesetzten Katecholaminmengen (nach Mathies (9) über 0.5 γ /100 g Tier), die bereits zu einer Hyaluronidasehemmung führen, sind mit Bestimmungen des Katecholamingehaltes des Blutes mit den bis heute zur Verfügung stehenden Methoden nicht zu erfassen. Deshalb vermag nur ein Absinken des Katecholamingehaltes der Nebenniere eine Aussage über eine Freisetzung aus dem Nebennierenmark zu machen. Am Beispiel der Acetylsalicylsäure und des Hydrocortisons hat Mathies (4, 16) bereits eine signifikante Abnahme des Katecholamingehaltes der Nebennieren zeigen können. Mit der gleichen Methode sollten in der vorgelegten Arbeit die Verhältnisse des Katecholamingehaltes der Nebenniere nach Applikation von Acetylcholin + Prostigmin untersucht werden. Da die angewandte Methode nach Brüggemann, Karg und Käppeler (17) im gleichen Arbeitsgang auch die Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren gestattet, war es interessant, gleichzeitig die Beeinflussung der Nebennierenrindenaktivität durch Acetylcholin + Prostigmin zu studieren.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Methodik

Die Versuche wurden an männlichen weißen Ratten im Gewicht von 95 bis 165 g durchgeführt. Die Katecholamin- und Ascorbinsäurebestimmung der Nebennieren wurde 5, 10, 20, 35, 50, 65, 80 und 120 Minuten nach der Injektion von Acetylcholin + Prostigmin sowie in einer Kontrollgruppe ohne Applikation der Versuchsubstanzen durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Tiere dekapitiert und unmittelbar danach beide Nebennieren herauspräpariert und sorgfältig aus der Kapsel gelöst und gewogen.

Die Katecholaminbestimmung wurde nach der von Brüggemann, Karg und Käppeler (17) angegebenen Methodik ausgeführt. Die beiden Nebennieren wurden in einem Zentrifugenglas, in dem 5 ml einer 4%igen Trichloressigsäure vorgelegt waren, mit ca. 50 mg Celite 535 und etwas Quarzsand mit einem Glasstab zerrieben. Das Ganze wurde 10 Minuten bei 4000 Umdrehungen zentrifugiert. Der Überstand wurde vom zurückbleibenden Bodensatz abgeschüttet und davon je 2 ml in Reagenzglas a und b pipettiert. Dazu wurden 0.1 ml Bromwasser (gesättigte Lösung: 3,5 g in 100 ml Aqua dest.) und nach kurzem Schütteln innerhalb von 5-10 Sekunden 0,1 ml Anilin (3 Vol. % in 9n H₂SO₄ gegeben. Nach Schütteln wurden 0,5 ml Dinitrophenylhydrazin in 2%iger Lösung von 9 n H₂SO₄ hinzugefügt. Anschließend wurde Probe a 5 Minuten in siedendes Wasser getaucht, dann zusammen mit Probe b 5 Minuten in ein kaltes Wasserbad gestellt. Dabei wurden je 5 ml 70%ige H₂SO₄ dazugegeben. Jetzt erfolgt die Messung im Spektrophotometer in 1 cm Küvetten mit Filter 546 m μ gegen einen Blindwert. Dieser wird durch das gleiche Verfahren, aber ohne Drüse ermittelt. Dann sind Probe a gegen Blindwert Katecholamine + Ascorbinsäure, Probe b nur Katecholamine. Die Differenz der Extinktionswerte entspricht dem des Ascorbinsäuregehaltes. Zur Umrech-

nung der erhaltenen Extinktion auf die enthaltene Katecholamin- und Ascorbinsäuremenge ist die Anfertigung einer Eichkurve (Abb. 1) notwendig. Hierzu wurde das gleiche Verfahren mit bekanntem Ascorbinsäure- und Adrenalingehalt statt Nebennieren angewandt. An Hand dieser Eichkurve ist dann der Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren zu bestimmen. Es wurde der Ascorbinsäuregehalt auf 1 mg Nebenniere, der Katecholamingehalt auf 100 g Tier bezogen.

1. Versuchsreihe

An elf unbehandelten Tieren wurden zunächst die Leerwerte als Kontrollen ermittelt. Die Versuchsergebnisse finden sich in Tabelle 1.

2. Versuchsreihe

In dieser Versuchsreihe wurden 5 Tiere 5 Minuten nach i. v. Injektion von 0,2 mg Acetylcholin + 1 Prostigmin/100 g Tier dekapitiert und der Gehalt der Nebennieren an Katecholaminen und Ascorbinsäure bestimmt. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 2 aufgeführt.

3. Versuchsreihe

Die Bestimmungen des Katecholamin- und Ascorbinsäuregehaltes erfolgten 10 Minuten nach Acetylcholin + Prostigmin-Injektion. Die Versuchsergebnisse zeigt Tabelle 3.

4. Versuchsreihe

Die Katecholamin- und Ascorbinsäurebestimmung wurde in dieser Versuchsreihe 20 Minuten nach Injektion von Acetylcholin + Prostigmin durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 enthalten.

5. Versuchsreihe

Der Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt wurde 35 Minuten nach der Injektion von Acetylcholin + Prostigmin bestimmt. Die Versuchsergebnisse zeigt Tabelle 5.

6. Versuchsreihe

In dieser Versuchsreihe wurden die Bestimmungen 50 Minuten nach Applikation von Acetylcholin + Prostigmin durchgeführt. Die Versuchsergebnisse finden sich in Tabelle 6.

7. Versuchsreihe

Die Bestimmungen erfolgten 65 Minuten nach der Acetylcholin + Prostigmin-Applikation. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigt Tabelle 7.

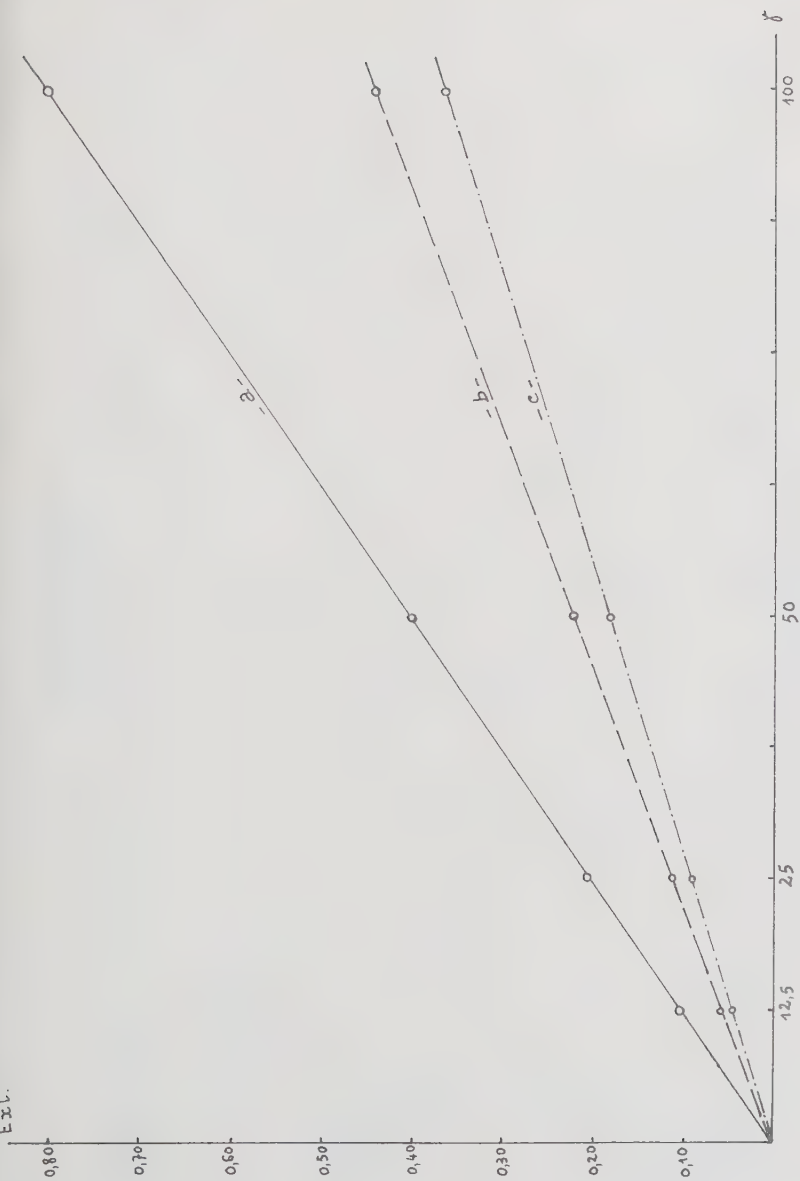
8. Versuchsreihe

Der Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren wurde 80 Minuten nach Gabe von Acetylcholin + Prostigmin ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 aufgeführt.

9. Versuchsreihe

In dieser Versuchsreihe wurde der Katecholamin- und Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren 120 Minuten nach Injektion von Acetylcholin + Prostigmin bestimmt.

Ext.



a ————— = Gesamt Katecholamine + Ascorbinsäure

b - - - - - = Gesamt Katecholamine

c - · - · - · = Ascorbinsäure

Abbildung 1

Eichkurve

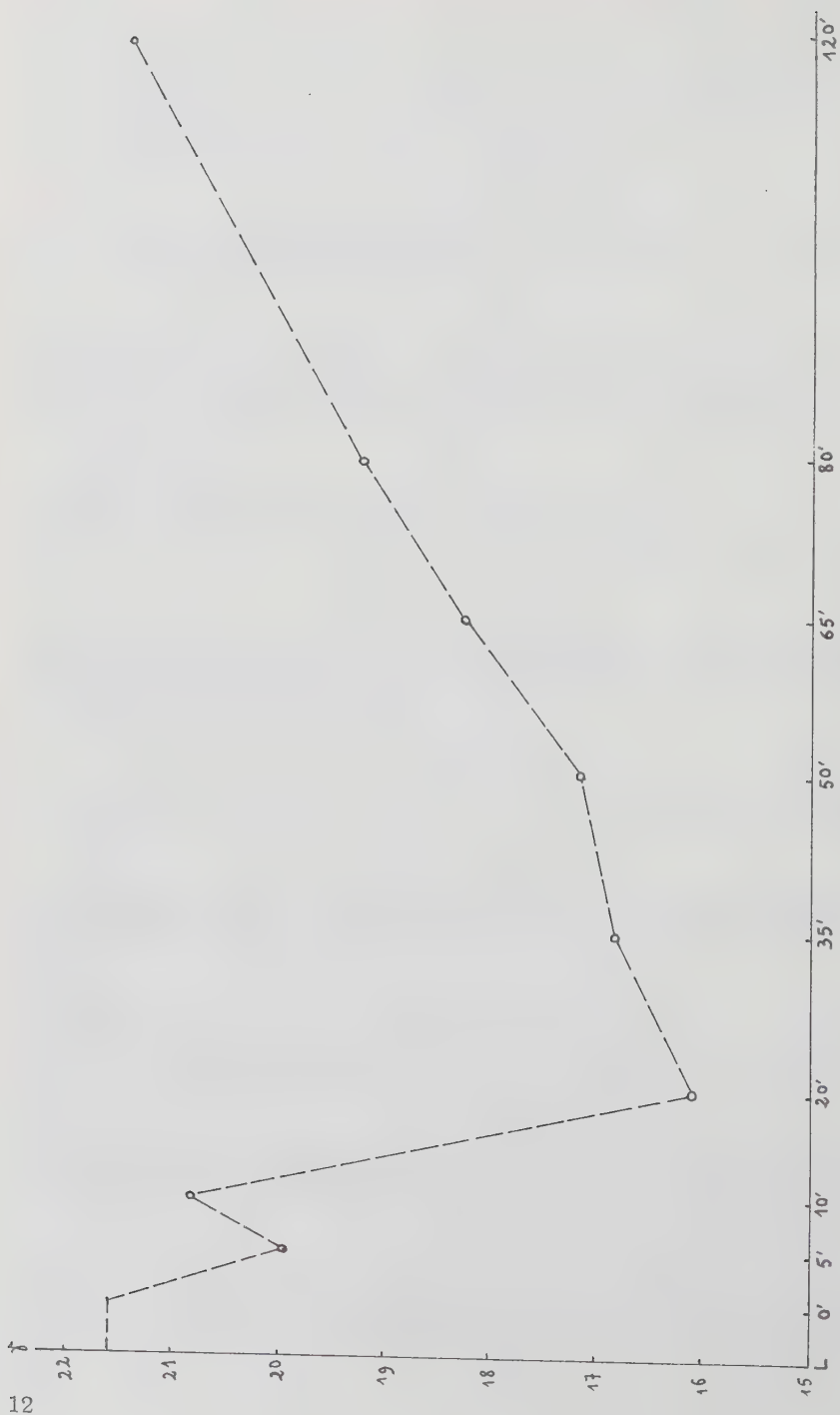


Abbildung 2
Katecholaminengehalt

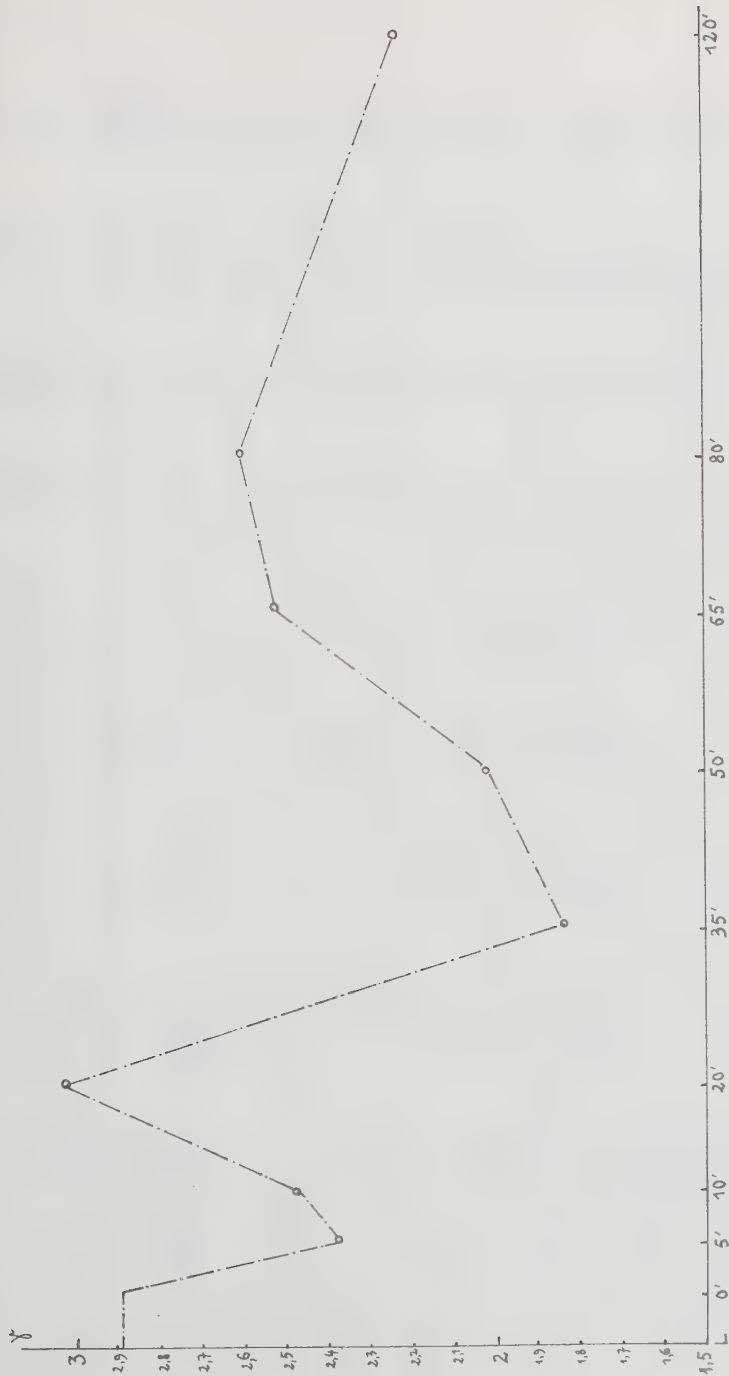


Abbildung 3
Ascorbinsäuregehalt

TABELLE 1
(unbehandelte Tiere)

Tier Nr.	Tier- Gew. g	NN-Gew. mg	Gesamt Ext.	Katechol. Ext.	Ascor. Ext.	Katechol. ♂	Ascor. ♂	Katechol. ♂/100g Tier	Ascor. ♂/mg NN
1	125	19,0	0,410	0,127	0,283	30,0	78,5	24,00	4,13
2	95	27,2	0,340	0,115	0,235	27,0	64,5	28,42	2,37
3	115	20,6	0,375	0,107	0,268	25,0	75,0	21,73	3,64
4	125	29,7	0,360	0,116	0,244	27,0	68,0	21,60	2,28
5	140	15,3	0,367	0,105	0,262	24,5	72,5	17,50	2,86
6	130	13,3	0,291	0,132	0,159	30,5	44,0	23,46	3,308
7	120	18,0	0,310	0,102	0,208	23,5	57,0	19,50	3,16
8	110	16,0	0,252	0,096	0,156	23,0	43,0	20,90	2,68
9	100	16,0	0,218	0,064	0,154	14,5	42,5	14,50	2,65
10	95	14,0	0,239	0,100	0,139	24,0	38,0	25,50	2,71
11	100	13,0	0,174	0,080	0,094	20,0	26,0	20,00	2,00

TABELLE 2
(5' nach i. v. Injektion von 0,2 mg Acetylcholin 1 μ Prostigmin/100 g Tier)

Tier Nr.	Tier- Gew. g	NN-Gew. mg	Gesamt Ext.	Katechol. Ext.	Ascor. Ext.	Katechol. ♂	Ascor. ♂	Katechol. ♂/100g Tier	Ascor. ♂/mg NN
12	105	23,5	0,355	0,122	0,233	28,5	64,5	27,14	2,78
13	135	14,0	0,220	0,130	0,090	30,5	24,5	22,59	1,75
14	140	27,2	0,440	0,110	0,330	26,0	92,0	18,57	3,38
15	135	11,8	0,190	0,088	0,102	20,5	27,5	15,18	2,33
16	135	15,5	0,175	0,092	0,083	21,5	22,5	15,92	1,45

TABELLE 3

(10' nach i. v. Injektion von 0,2 mg Acetylcholin + 1 µ Prostigmin/100 g Tier)

Tier Nr.	Tier- Gew. g	NN-Gew. mg	Gesamt Ext.	Katechol. Ext.	Ascor. Ext.	Katechol. ♂	Ascor. ♂	Katechol. ♂/100g Tier	Ascor. ♂/mg NN
17	145	17,0	0,270	0,094	0,176	21,5	49,0	14,82	2,29
18	135	19,8	0,286	0,116	0,170	27,0	47,0	20,00	2,37
19	135	14,5	0,230	0,095	0,135	22,25	37,0	16,48	2,55
20	95	13,0	0,244	0,132	0,112	31,0	31,0	32,63	2,38
21	130	19,0	0,297	0,110	0,187	26,0	52,0	20,00	2,73

TABELLE 4

(20' nach i. v. Injektion von 0,2 mg Acetylcholin + 1 µ Prostigmin/100 g Tier)

Tier Nr.	Tier- Gew. g	NN-Gew. mg	Gesamt Ext.	Katechol. Ext.	Ascor. Ext.	Katechol. ♂	Ascor. ♂	Katechol. ♂/100g Tier	Ascor. ♂/mg NN
22	155	21,5	0,360	0,121	0,239	28,5	66,5	18,38	3,09
23	155	19,8	0,288	0,104	0,184	24,5	51,0	15,80	2,57
24	145	20,5	0,348	0,086	0,262	20,0	73,0	13,79	3,56
25	125	15,5	0,266	0,082	0,184	19,5	51,0	15,60	3,29
26	165	29,6	0,382	0,118	0,264	27,5	73,5	16,66	2,48

TABELLE 5

(35° nach i. v. Injektion von 0,2 mg Acetylcholin + 1 µ Prostigmin/100 g Tier)

Tier Nr.	Tier- Gew. g	NN-Gew. mg	Gesamt Ext.	Katechol. Ext.	Ascor. Ext.	Katechol. µ	Ascor. µ	Katechol. µ/100g Tier	Ascor. µ/mg NN
27	145	12,2	0,175	0,102	0,073	24,5	19,5	16,89	1,59
28	135	18,2	0,256	0,101	0,155	24,2	42,5	17,92	2,33
29	160	16,8	0,218	0,096	0,122	22,5	33,5	14,06	1,99
30	130	16,3	0,222	0,118	0,104	28,0	28,5	21,53	1,74
31	110	12,7	0,137	0,064	0,070	15,0	18,5	13,63	1,45

TABELLE 6

(50° nach i. v. Injektion von 0,2 mg Acetylcholin + 1 µ Prostigmin/100 g Tier)

Tier Nr.	Tier- Gew. g	NN-Gew. mg	Gesamt Ext.	Katechol. Ext.	Ascor. Ext.	Katechol. µ	Ascor. µ	Katechol. µ/100g Tier	Ascor. µ/mg NN
32	150	16,2	0,177	0,107	0,070	25,0	18,5	16,66	1,14
33	145	13,8	0,180	0,096	0,084	22,5	23,0	15,52	1,66
34	110	18,6	0,186	0,055	0,131	12,5	30,5	11,36	1,65
35	135	13,3	0,248	0,116	0,132	26,0	37,0	19,25	2,78
36	145	10,9	0,249	0,138	0,111	33,0	30,0	22,75	2,75

TABELLE 7

(65' nach i. v. Injektion von 0,2 mg Acetylcholin + 1 μ Prostigmin/100 g Tier)

Tier Nr.	Tier- Gew. g	NN-Gew. mg	Gesamt Ext.	Katechol. Ext.	Ascor. Ext.	Katechol. δ	Ascor. δ	Katechol. δ /100g Tier	Ascor. δ /mg NN
37	130	18,2	0,228	0,118	0,110	27,5	30,0	21,15	1,64
38	145	17,6	0,270	0,095	0,175	22,5	48,5	15,51	2,70
39	135	17,7	0,297	0,100	0,197	24,0	54,5	17,77	3,07
40	130	13,3	0,220	0,085	0,135	19,5	37,0	15,00	2,78
41	130	11,2	0,212	0,118	0,094	27,5	26,0	21,15	2,32

TABELLE 8

(80' nach i. v. Injektion von 0,2 mg Acetylcholin + 1 μ Prostigmin/100 g Tier)

Tier Nr.	Tier- Gew. g	NN-Gew. mg	Gesamt Ext.	Katechol. Ext.	Ascor. Ext.	Katechol. δ	Ascor. δ	Katechol. δ /100g Tier	Ascor. δ /mg NN
42	145	10,6	0,191	0,120	0,071	28,0	19,0	19,31	1,79
43	135	14,8	0,240	0,100	0,140	24,0	38,5	17,77	2,60
44	135	8,2	0,170	0,090	0,080	21,0	21,5	15,55	2,62
45	135	10,6	0,220	0,112	0,108	26,0	29,5	19,25	2,78
46	135	13,1	0,292	0,134	0,158	31,5	40,5	23,33	3,09

TABELLE 9

(120° nach i. v. Injektion von 0,2 mg Acetylcholin + 1 µ Prostigmin/100 g Tier)

Tier Nr.	Tier- Gew. g	NN-Gew. mg	Gesamt		Katechol.		Ascor.		Katechol.		Ascor.	
			Ext.		Ext.		Ext.		Ext.		Ext.	
47	150	15,0	0,255	0,150	0,105	35,5	28,5	23,66	1,90			
48	125	14,3	0,234	0,110	0,124	26,0	34,5	20,80	2,41			
49	150	17,8	0,312	0,170	0,142	40,0	38,5	26,66	2,16			
50	110	11,6	0,148	0,085	0,063	20,0	17,0	18,88	1,46			
51	95	15,1	0,235	0,070	0,165	16,0	45,5	16,84	3,01			

Bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse gingen wir von der Annahme aus, daß innerhalb jeder Versuchsstufe der Katecholamin- bzw. der Ascorbinsäuregehalt normal verteilt sei. Aufgabe der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse war es zu prüfen, ob zwischen den Normalverteilungen, die zu den einzelnen Versuchsstufen gehören, Unterschiede bestehen. Jede Normalverteilung ist durch zwei Parameter charakterisiert, ihren Erwartungswert und ihre Varianz. Die statistische Analyse läuft somit darauf hinaus zu untersuchen, ob die Parameter, die zu verschiedenen Versuchsstufen gehören, sich voneinander unterscheiden.

Die Ergebnisse über den Katecholamin- bzw. den Ascorbinsäuregehalt der innerhalb einer Versuchsstufe beobachteten Versuchstiere faßten wir als eine Stichprobe aus der zugehörigen Normalverteilung der Versuchsstufe auf. Das arithmetische Mittel $\bar{x}$ dieser Meßwerte ist dann als Schätzwert für den Erwartungswert der Normalverteilung anzusehen, die empirische Varianz s^2 zwischen diesen Meßwerten als Schätzwert für die Varianz der Normalverteilung. Die errechneten Schätzwerte sind in den Tabellen 10 und 11 zusammengestellt, außerdem ist dort auch die Anzahl "N" der jeweils beobachteten Versuchstiere angegeben. Die Mittelwerte sind außerdem in den Abbildungen 2 und 3 graphisch dargestellt.

Wir prüfen zunächst, ob zwischen den Varianzen s^2 , die zu verschiedenen Versuchsstufen gehören, statistisch gesicherte Unterschiede vorliegen. Hierzu wird die Hypothese geprüft, daß die beobachteten empirischen Varianzen s^2 Schätzwert der gleichen, übergeordneten Varianz sind, wobei diese übergeordnete Varianz nicht von den Versuchsstufen abhängt. Als Test zur Prüfung dieser Hypothese verwandten wir den BARTLETT-Test, dessen Ergebnis am Fuße der Tabellen 10 und 11 wiedergegeben ist. Es bedeutet hierin χ^2 die Prüfgröße des Testes, "n" die Zahl der Freiheitsgrade der zugehörigen Chi-Quadrat-Prüfverteilung, "p" ist die Überschreitungswahrscheinlichkeit, welche der beobachteten Prüfgröße χ^2 dieser Prüfverteilung zukommt, nur wenn diese Überschreitungswahrscheinlichkeit kleiner als 5% ist, liefert der Test einen Hinweis dafür, daß die zu prüfende Hypothese dem realen Sachverhalt nicht entspricht.

Weder für die Bestimmungen des Katecholamingehaltes noch für die Bestimmungen des Ascorbinsäuregehaltes zwingt das Ergebnis des BARTLETT-Tests dazu, die ihm zugrunde liegende Hypothese zu verwerfen. Es darf somit angenommen werden, daß die beobachteten Unterschiede in den empirischen Varianzen s^2 der verschiedenen Versuchsstufen im wesentlichen auf zufälligen Stichprobeneffekten beruhen.

Nachdem der BARTLETT-Test gezeigt hat, daß sich die Normalverteilungen, die zu den einzelnen Versuchsstufen gehören, hinsichtlich ihrer Varianzen nicht unterscheiden, war noch zu prüfen, ob zwischen den Erwartungswerten dieser Verteilungen Unterschiede vorliegen. Zur Prüfung dieser Frage wurden Varianz-Analysen durchgeführt, deren Ergebnisse in den Tabellen 12 und 13 wiedergegeben sind. Es

bedeutet hierbei in den Schemata der Varianz-Analysen

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente,
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente,
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente,
- F_{emp}: der Varianz-Quotient zwischen der betreffenden Varianz-Komponente und der "Varianz innerhalb der Stufen",
- p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit, welchem Varianz-Quotienten F_{emp} in der zugehörigen F-Verteilung zukommt.

Den statistischen Prüfungen, welche wir mit Hilfe der Varianz-Analysen durchführten, legten wir als Schätzung der experimentellen Variabilität die "Varianz innerhalb der Stufen" zugrunde; dementsprechend wurden die Varianz-Quotienten, welche als Prüfgrößen in den Varianz-Analysen auftreten, immer in Bezug auf diese experimentelle Variabilität errechnet.

Mit Varianz-Analysen wurde zunächst geprüft, ob sich der mittlere Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehalt zu den "Versuchszeiten" wesentlich von demjenigen der Leer-Tiere unterscheiden. Hierzu dient die Varianz-Komponente "zwischen Leerwerten und Versuchszeiten". Es zeigte sich, daß solche Unterschiede sowohl hinsichtlich des Katecholamin- als auch hinsichtlich des Ascorbinsäuregehaltes vorliegen. Bei dem Katecholamingehalt sind diese Unterschiede nur schwach gesichert (Irrtumswahrscheinlichkeit 5 %), bei dem Ascorbinsäuregehalt liegt dagegen eine ausreichende statistische Sicherung vor (Irrtumswahrscheinlichkeit 1%). Weiter wurde geprüft, ob innerhalb der Versuchszeiten selbst Unterschiede in dem Katecholamin- bzw. Ascorbinsäuregehalt der Versuchstiere vorliegen. Hierbei mußte berücksichtigt werden, daß es sich bei den Werten zu den "Versuchs-Zeiten" um eine Zeitreihe handelt, d. h., daß die Werte systematisch von dem Zeitpunkt ihrer Bestimmung abhängen und nicht nur zufällig voneinander abweichen. Von einer exakten Zeitreihenanalyse haben wir jedoch abgesehen, wir haben vielmehr nur die Versuchszeiten in drei verschiedenen Gruppen eingeteilt und diese Gruppen untereinander verglichen. Die erste Gruppe umfaßt die Versuchszeiten 5' und 10', die zweite Gruppe die Versuchszeiten 20', 35' und 50' und schließlich die dritte Gruppe die Versuchszeiten 65', 80' und 120'. Zur Prüfung der Frage, ob zwischen diesen Gruppen von "Versuchszeiten" statistisch gesicherte Unterschiede vorliegen, diente die Varianz-Komponente "zwischen Zeit-Gruppen". Neben der Frage, ob zwischen den Zeit-Gruppen Unterschiede vorliegen, muß auch noch geprüft werden, ob innerhalb der einzelnen Zeit-Gruppen sich der Katecholamin- bzw. der Ascorbinsäuregehalt der Versuchstiere ändert. Hierzu dient die Varianz-Komponente "innerhalb Zeitgruppen".

Im einzelnen ergab die Durchführung der Prüfung: Bei dem Katecholamingehalt zeigte sich, daß zwischen den Zeit-Gruppen statistisch schwach gesicherte Unterschiede vorliegen, im einzelnen zeigte die Größe der Mittelwerte, daß die mittlere Zeit-Gruppe in ihrem Gesamtmittel niedriger liegt als die erste und die dritte

Zeitgruppe. Betrachtet man die Mittelwerte des Katecholamingehaltes insgesamt, so zeigt sich, daß zunächst ein stetiger Abfall des Katecholamingehaltes bis zum Zeitpunkt 20' eintritt, dem dann ein langsamer Anstieg folgt, bis schließlich zum Zeitpunkt 120' praktisch wieder der Leerwert erreicht wird. Die Veränderung des Katecholamingehaltes innerhalb der einzelnen Zeit-Gruppen ist verhältnismäßig klein, dies äußert sich darin, daß bei dem Katecholamingehalt die Varianz-Komponente "innerhalb Zeit-Gruppen" kleiner ist als die experimentelle Variabilität. Beim Ascorbinsäuregehalt liegen die Verhältnisse etwas anders, hier besteht zwischen den Zeit-Gruppen statistisch kein gesicherter Unterschied. Dagegen unterscheiden sich innerhalb der einzelnen Zeit-Gruppen die beobachteten Ascorbinsäurewerte. Eine genauere Analyse zeigt, daß nur innerhalb der mittleren Zeit-Gruppe Unterschiede im Ascorbinsäuregehalt der Versuchstiere auftreten, diese beschränken sich auf einen starken Abfall zwischen den Zeitpunkten 20' und 35'. In den beiden anderen Zeitgruppen sind praktisch keine Unterschiede in Ascorbinsäuregehalt zwischen den mit ihnen zusammengefaßten Zeitpunkten zu beobachten. Betrachtet man den Verlauf der Ascorbinsäurewerte über die Versuchszeiten hinweg insgesamt, so zeigt sich, daß während der gesamten Versuchszeiten der Ascorbinsäuregehalt niedriger liegt als derjenige der Leertiere, eine Ausnahme bildet der Zeitpunkt 20', bei dem ein Ascorbinsäuregehalt beobachtet wurde, der praktisch demjenigen der Leer-Tiere entspricht.

Das Ergebnis der statistischen Auswertung kann wie folgt zusammengefaßt werden: sowohl bei dem Katecholamingehalt als auch bei dem Ascorbinsäuregehalt zeigten sich zu den Versuchszeiten statistisch gesicherte Unterschiede gegenüber den Leertieren. Der Katecholamingehalt fällt nach Applikation von Acetylcholin Prostigmin zunächst gegenüber den Leerwerten ab um später wieder zum Ausgangswert zurückzukehren. Bei dem Ascorbinsäuregehalt dagegen wird während sämtlicher Versuchszeiten ein Wert beobachtet, der niedriger liegt als derjenige der Leer-Tiere.

TABELLE 10
(Katecholamingehalt)

	N	$\bar{x}$	s^2
Leer	11	21,6	14,55
5'	5	19,9	24,73
10'	5	20,8	48,75
20'	5	15,1	1,97
35'	5	16,8	10,21
50'	5	17,1	18,13
65'	5	18,1	8,92
80'	5	19,1	7,91
120'	5	21,4	15,29

n = 8;

$\chi^2_{\text{emp.}} = 10,783;$

p = 20 %

TABELLE 11
(Ascorbinsäuregehalt)

	N	$\bar{x}$	s^2
Leer	11	2,89	0,3919
5'	5	2,34	0,6039
10'	5	2,46	0,0311
20'	5	3,00	0,2153
35'	5	1,82	0,1213
50'	5	2,00	0,5371
65'	5	2,50	0,3038
80'	5	2,58	0,2315
120'	5	2,19	0,3347

$n = 8$; $\chi^2_{\text{emp.}} = 9,489$; $p = 30 \%$

TABELLE 12
(Katecholamingehalt)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{\text{emp.}}$	P.
Zwischenstufen	8	240,95	30,12	1,83	-
Zw. Leerwerte und Vers. Zeiten	1	78,92	78,92	4,81	5%
Zw. Zeit und Gruppen	2	119,68	59,84	3,65	5%
Innerhalb Zeit-Gruppen	5	42,35	8,47	-	
Innerhalb Stufen	42	689,12	16,41		
Gesamt - Varianz	50	930,07	18,60		

TABELLE 13
(Ascorbinsäuregehalt)

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	$F_{\text{emp.}}$	P.
Zwischenstufen	8	7,1154	0,8894	2,78	5%
Zw. Leerwerte und Vers. Zeiten	1	2,4212	2,4212	7,57	1%
Zw. Zeit und Gruppen	2	0,1924	0,0962	-	
Innerhalb Zeit-Gruppen	5	4,5018	0,9003	2,81	5%
Innerhalb Stufen	42	13,4337	0,3199		
Gesamt - Varianz	50	20,5491	0,4110		

DISKUSSION

Wie die Versuchsergebnisse und deren statistische Auswertung zeigen, nimmt der Katecholamingehalt der Nebennieren nach Applikation von Acetylcholin + Prostigmin gegenüber den Kontrollwerten signifikant ab. Das Maximum der Verringerung des Katecholamingehaltes liegt bei 20 Minuten nach Injektion. 120 Minuten p.i. ist der Ausgangswert praktisch wieder erreicht. Die Differenz des Minimalwertes von $15,1 \mu\text{g} / 100 \text{ g}$ Tier gegenüber dem Leerwert von $21,6 \mu\text{g} / 100 \text{ g}$ Tier beträgt $6,5 \mu\text{g} / 100 \text{ g}$. Da vermutlich diese Differenz aus Ausschüttung und etwaiger gleichzeitiger Neubildung resultiert, kann lediglich ausgesagt werden, daß mindestens über $6 \mu\text{g}$ Katecholamine freigesetzt werden. Diese Menge liegt im Bereich der Größenordnung, die nach Mathies (9) eine deutliche Hemmung des Hyaluronidase-spreadings bewirkt. Im Zusammenhang mit den eingangs erwähnten, bereits vorliegenden Untersuchungen kann gefolgert werden, daß Acetylcholin mit Prostigmin eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark bewirkt, die vermutlich nicht auf dem Wege über eine Nebennierenmarkstimulierung zustande kommt.

Die gleichzeitig durchgeführten Bestimmungen des Ascorbinsäuregehaltes der Nebennieren zeigen, daß ebenfalls eine Abnahme des Ascorbinsäuregehaltes zu erkennen ist, deren Maximum 35 Minuten nach der Applikation von Acetylcholin + Prostigmin liegt. Der Ausgangswert ist 120 Minuten p.i. noch nicht wieder erreicht. Die Differenz des niedrigsten Ascorbinsäuregehaltes gegenüber dem Leerwert beträgt $1,07 \mu\text{g} / \text{mg}$ Nebennierengewicht und ist statistisch zu sichern. Sie liegt in der gleichen Größenordnung wie die von Domenjoz (6) unter Acetylsalicylsäure und Phenylbutazon gefundenen Werte. Damit zeigt sich, daß Acetylcholin + Prostigmin neben der Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark auch eine Aktivierung der Nebennierenrinde zur Folge hat.

ZUSAMMENFASSUNG

Bestimmungen des Katecholamingehaltes der Nebennieren nach Gabe von Acetylcholin (zusammen mit Prostigmin als Cholinesterasehemmstoff) zeigten, daß eine Abnahme des Katecholamingehaltes stattfindet, die vermutlich im Sinne einer Freisetzung von Katecholaminen zu werten ist. Im Zusammenhang mit bereits vorliegenden Untersuchungsergebnissen ist anzunehmen, daß diese Katecholaminfreisetzung reaktiv erfolgt und nicht im üblichen Sinne einer Nebennierenmarkaktivierung zu verstehen ist. Gleichzeitig durchgeführte Untersuchungen über den Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren nach Acetylcholin + Prostigmin-Gaben zeigten, daß gleichzeitig die Nebennierenrinde stimuliert zu werden scheint.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Mathies, H.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 240, 31 (1960)
- 2) Mathies, H. u. Jankowski, A.:
Klin. Wschr. 35, 1676 (1957)
- 3) Mathies, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
- 4) Mathies, H.: Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
- 5) Mathies, H.: Ärztl. Forsch. XIV, I/160 (1960)
- 6) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
- 7) Sayers, G. u. Sayers, M.:
Endocrinology (Springfield) 40, 256 (1947)
- 8) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. und Schmidt, D.:
Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 9) Mathies, H.: Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
- 10) Mathies, H., Oestreich, G. u. Schwalbach, K.:
in Vorbereitung
- 11) Eichholtz, F.: Lehrb. d. Pharmacol., Springer Berlin-Göttingen-
Heidelberg 80 (1957)
- 12) Mathies, H. u. Schlierf, G.:
Med. Exp. 2, 333 (1960)
- 13) Schlierf, G.: Diss. München 1959
- 14) Kramer H.J.: Diss. München 1959
- 15) Mathies, H. u. Kramer, H.J.:
in Vorbereitung
- 16) Mathies, H.: Med. Wschr. 11, 791 (1957)
- 17) Brüggemann, J., Karg, H. u. Käppeler, O.:
Vitamine u. Hormone 7, 200 (1956)

Abschließend danke ich Herrn Professor Dr. W. Seitz herzlich für die Überlassung des Themas, Herrn Dr. H. Mathies bin ich für die Anregungen und Ratschläge bei der Durchführung und Gestaltung der Arbeit zu besonderem Dank verbunden, Herrn Dipl.-Math, K. Liebrich möchte ich für die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse danken.

LEBENS LAUF

Am 18. Dezember 1931 wurde ich in Marua/Kamerun geboren, wo mein Vater als Beamter im Dienste der Regierung tätig war, obwohl meine Eltern von Jaunde/Kamerun **herstammten**. In Nanga-Eboko/Kamerun legte ich die Schulabschlußprüfung (C. E. P.) im Jahre 1944 ab und besuchte das Gymnasium in Jaunde. Dort bekam ich das Abschlußzeugnis der 4. Klasse (**Brevet Élémentaire**). Ich setzte meine Ausbildung in Frankreich fort, wo ich in Nantes (**Lycée Clemenceau**) das französische Abitur mit Erfolg im Jahre 1951 bestand.

Im Jahre 1951 begann ich das Medizinstudium bei der Universität Lyon/Frankreich, wo ich 1952 das Vorphysikum (P.C.B.) und 1954 die ärztliche Vorprüfung bestand. Weiterhin besuchte ich in Paris von 1955 bis Anfang 1957 die medizinische Fakultät, wo ich zwei klinische Semester belegte und nebenbei Mathematik und Naturwissenschaften studierte. Ich setzte das klinische Studium im Sommersemester 1957 an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München fort und legte dort im August 1960 das ärztliche Staatsexamen ab.

